

冠動脈内膜内新生血管の病的意義：
マルチモダリティ血管内イメージングを用いた
臨床的検討(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程
内科系循環器内科学専攻

西田俊彦

修了年 2016年

指導教員 廣 高史

目的：虚血性心疾患患者において認められる冠動脈プラーク内の新生血管の臨床的意義を血管内超音波法、光干渉断層図法、ならびに血管内視鏡を用いて検討する。

方法：2012年4月から2014年12月までに日本大学医学部附属板橋病院にて安定狭心症の診断のもと冠動脈インターベンションを受け、冠動脈造影、ならびに上記の血管内イメージングを施行した患者で光干渉断層図法において冠動脈プラーク内を走行する直径50から300 μ mの微小新生血管を有する患者を対象とした。この血管プラーク内新生血管を認めた症例について新生血管の総容積を算出し、種々の血管内モダリティを用いて求めた動脈硬化の状態を表す各種パラメータとの比較検討を行った。各種パラメータとして血管内超音波法では、プラーク体積、血管体積、%プラーク体積、内腔体積、またカラー血管内超音波法では、線維性組織、壊死性組織、脂質性組織等の含有量や含有比率、光干渉断層図法では、最大脂質コア仰角ならびに線維性被膜厚、血管内視鏡ではプラークの黄色度をそれぞれ測定した。検討対象プラークは、新生血管を認めた冠動脈枝内の全プラークを対象とした。

結果：光干渉断層図法において血管プラーク内新生血管を認めた症

例は 44 症例であった。血管内超音波検査における grey scale 評価において血管プラーク内新生血管の総容積と冠動脈プラーク総容積との間($r=0.452$, $p=0.002$)、ならびに冠動脈血管総容積との間($r=0.382$, $p=0.011$)にそれぞれ有意な相関を認めたが冠動脈内腔総容積とは有意な相関を認めなかった。 $(r=0.204$, $p=0.183)$ また、カラー血管内超音波法において、血管プラーク内新生血管の総容積は、線維性組織含有量($r=0.333$, $p=0.027$)、壊死性組織含有量($r=0.591$, $p<0.001$)及び脂質性組織含有量($r=0.531$, $p=0.0002$)とそれぞれ有意な正の相関関係を示したが、石灰化組織含有量とは有意な相関関係は認めなかった($r=0.208$, $p=0.175$)。一方、それぞれの組織のプラーク総容積に対する含有率を比較したところ、血管プラーク内新生血管の総容積と%線維性組織含有率の間には負の相関($r=-0.413$, $p=0.005$)を、%壊死性組織含有率との間には正の相関($r=0.531$, $p=0.0002$)を認めた。また%脂質性組織含有率($r=0.240$, $p=0.115$)及び%石灰化組織含有率($r=-0.07$, $p=0.615$)との間には有意な相関関係を認めなかった。さらに光干渉断層図法において血管プラーク内新生血管の総容積と最大脂質コア仰角との間に正の相関関係を認めた ($r=0.410$, $p=0.006$)が線維性被膜厚との間に有意な相関はなかった($r=-0.248$, $p=0.104$)。

また、血管プラーク内新生血管の総容積と血管内視鏡における対象冠動脈枝内の **grade2** 以上の黄色プラークの数との間に有意な正の相関関係を認めた。 $(r=0.576, p<0.0001)$ 。多変量解析の結果、血管内新生血管の総容積の有意な規定因子として、%壊死性組織含有率 $(p=0.0001)$ と黄色プラーク総個数 $(p=0.0001)$ 、ならびに尿酸値 $(p=0.0233)$ があげられることが示された。

考察：本研究により血管内膜に光干渉断層図法（OCT：optical coherence tomography）で認められる新生血管をより多く有する冠動脈枝は、以下のような特徴があることが判明した。

- 1) ヘモグロビン値、HDL コレステロール値、総コレステロール値、尿酸値が有意に低かった。
- 2) プラーク容積や%プラーク容積が有意に大きかった。
- 3) 線維性組織の含有率が小さく、壊死性組織の含有率が有意に大きかった。
- 4) 血管内視鏡で認められる黄色プラークの数が有意に多かった。
- 5) 多変量解析の結果、新生血管の総容積は%壊死性組織含有率、黄色プラーク数、尿酸値の3因子に特に規定されていることが示された。すなわち、新生血管の総容積は不安定な冠動脈枝ほど大きい事

が示唆された。

新生血管の病理学的意義

プラーク内新生血管はプラークの形成や不安定化に関連していることが過去に種々の病理学的報告がなされてきた(1-14)。Moulton KSらは、プラークの増生やマクロファージの浸潤に関与していることを報告した(6)。さらに新生血管はプラーク内出血に大きく関与していることが示された(1,3,12,13)。プラーク内出血はプラーク破綻の一原因とされている(8,12)。プラーク内新生血管はプラークの増生とともに密度が増えるだけでなく、その血管壁が菲薄化してくることが示されている(9)。すなわち、新生血管には種々の phenotype があり、プラークの不安定性に寄与しているものと、そうでないものがあるらしい(15)。その中で、特に比較的破れない stable vessel と、破れやすい unstable leaky vessel があることが言われている(16)。また新生血管は血管壁局所の炎症と関連していることが示されている。Turu MMらはCRPが血管新生に関与していることを報告した(17)。

新生血管の生成は種々の生化学的なシグナリングのもとで行われている事が実験的研究により報告されている。まずレニンアンジオ

テンシン系が関与していることが複数報告された(18-20)。さらに、特異的な生化学マーカーと関連が示唆されている。たとえば Vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2) (21), Tissue factor (22)、type 3 collagen(23)、Hepatocyte growth factor (HGF) (24)、Microparticle(25)、Leptin receptor (26)、hyaluronan (27) などが新生血管生成に関与しているらしい。いずれにせよ、動脈硬化進展の過程に新生血管が関連していることは間違いが無く、いずれこれらのマーカーと種々の血管内イメージングの所見を比較検討していくことができれば、実験的ではなく臨床的に新生血管やこれらのマーカーの意義が明らかになっていくことであらう。

血液生化学的所見からみた新生血管の意義

本研究では新生血管総容積と血液生化学的検査値とは種々の相関を認めた。

まず脂質プロフィールであるが、プラーク内新生血管の容積は総コレステロール値と HDL コレステロール値とは負の相関があり、LDL コレステロールと中性脂肪との間には相関が認められなかった。新生血管がプラークの不安定性と関係しているとすれば、LDL コレ

ステロールと相関がなかったのは、一見矛盾がある。しかし、本研究の対象患者では36%の症例ですでに脂質低下療法が行われており、また昨今の動脈硬化進展抑制のための **optimal medical therapy** が浸透していることもあって、相関がない結果となった可能性がある。むしろ最近 **residual risk** として注目されている **HDL** コレステロール低下と関連していたことの方が興味深い。総コレステロールも負の相関を示していたのは、その内訳における **HDL** コレステロールの寄与度が高かったためであるかもしれない。

冠動脈疾患の重要なリスクファクターとしてあげられる糖尿病、**CKD** に関しては、**HbA1c**、クレアチニン値、**eGFR** とはいずれも相関を認めなかった。糖尿病患者が対象症例の50%を占めていたものの、すでに治療がなされている者も多く、相関がえられなかった可能性がある。以上から、**HDL** コレステロールとそれを含む総コレステロールが冠危険因子の中で新生血管の総容積と特に相関を示していることから、新生血管の発生のメカニズムにこれらの値が関係していることが推測できる。とくに **HDL** コレステロールはプラーク内の泡沫細胞内のコレステロールを引き抜き、肝臓に逆転送を行う媒体として知られている。その結果、泡沫細胞化していたマクロファ-

ジはリンパ系を介してプラークから立ち去ることが報告されている (28)。HDL コレステロールが不足するということで、泡沫細胞、すなわち種々のサイトカインを分泌するマクロファージがプラークに居座ることになるため、その結果として新生血管が生成されやすくなるのかもしれない。

新生血管が局所の炎症の程度を反映しているという報告がある (11,17)。しかしながら、本研究では高感度 CRP との間にはわずかなら正相関が疑われる結果であったものの統計的に有意な相関は認められなかった。高感度 CRP は以前より血管壁内の炎症を反映し、心血管イベント発生のしやすさと関連していることが報告されている (29)。しかし、イベント発生のない症例との間にかなりのオーバーラップがあることが指摘されており、本研究での症例数規模では相関が出にくかった可能性がある。また、冠危険因子として認められている尿酸値であるが、プラーク内新生血管との間に有意な負の相関がみられた。この所見も一見矛盾があるが、その理由として、もともと尿酸値の高い患者ほど積極的に尿酸治療薬を投与されているがために、その結果として相関関係が逆転していた可能性が考えられる。いずれにしても、尿酸値と新生血管総容積との逆相関性の

機序については不明であるが、今後の検討が必要である。

血管内超音波検査(IVUS : intra vascular ultrasound)からみた新生血管の意義

IVUS における解析では新生血管の総容積とプラーク容積や%プラーク容積とは有意に相関を認めた。合わせて血管容積とも有意に相関した。プラーク容積はプラークの不安定性と関連していることが示唆されており (30)、また血管容積の増加、すなわちポジティブモデリングもまたプラークの不安定性が関係していること (31) が示唆されてきた。この grey-scale IVUS における解析結果により、新生血管の発生メカニズムにはプラーク増大の過程で、プラークが不安定化してくるメカニズムに関連していることが十分考えられる。

カラーIVUS ではより直接的にプラークの不安定性と新生血管の容積との関係を検討することができる。カラーIVUS では、線維性組織と脂質性組織、壊死性組織、石灰化組織が鑑別診断できるが、一般にプラークは線維性被膜の菲薄化があり脂質や壊死性の組織が増大しているほど不安定であることが示唆されている。本研究におけるカラーIVUS の解析結果では、線維性組織については、新生血管の総

容積と線維性組織の絶対量とは正の相関を、含有率とは負の相関を認めた。この結果は一見矛盾するが、相対的な含有率はプラークの不安定性を示すが、線維組織は線維性被膜だけでなく、プラーク全体を構成する支持組織であるため、むしろ絶対量はプラーク量と関連していたからであろう。一方、壊死性組織については、絶対量や含有率ともに正の相関を認めた。新生血管がプラークの不安定性と関係していることを示唆するだけでなく、とくに壊死性組織内にてきやすいことを示しているのかもしれない。あるいは逆に新生血管の形成がプラーク内の壊死領域を増やしやすいう結果になっている可能性もある。

OCT 所見からみた新生血管の意義

新生血管の総容積は OCT で測定した脂質コアの最大仰角とも相関が認められた。このこともまた、新生血管とプラークの不安定化との間には密接な関係があることを示唆している。

血管内視鏡所見からみた新生血管の意義

血管内視鏡による解析でも新生血管が多い冠動脈枝には黄色度の高いプラークがより多いという結果になった。プラークの黄色度はプラークの不安定性と関連していることは以前より報告がある

(32,33)。この結果は新生血管とプラークの不安定化との密接な関連を示唆した IVUS や OCT との結果とも矛盾しない。

多変量解析の結果から

多変量解析の結果から、新生血管の総容積は特に観察枝の壊死組織の含有率と黄色プラークの個数、ならびに尿酸値の3因子によって規定されていることが示された。前2者については、局所のプラークについての指標ではなく、新生血管が観察された冠動脈枝の近位から遠位にわたっての全体の不安定性を示している。従って、新生血管の存在は、一つのプラークだけでなく、冠動脈枝全体にわたって影響を及ぼしているのか、あるいは冠動脈枝全体の状態がその生成を規定していることが推察される。すなわち、*vulnerable plaque* の生成、*vulnerable vessel* の生成、ひいては *vulnerable patient* となる素地が新生血管の存在にあることを考える必要があるかもしれない。

結論：冠動脈内プラークに認められる新生血管はプラークの不安定性に関連していることがマルチモダリティー血管内イメージングを用いて示された。

引用文献

- 1) Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *The New England journal of medicine*. 2003;349:2316-25.
- 2) Moreno PR, Purushothaman KR, Zias E, Sanz J, Fuster V. Neovascularization in human atherosclerosis. *Current molecular medicine*. 2006;6:457-77. [PubMed]
- 3) Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25:2054-61.
- 4) Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Concept of vulnerable/unstable plaque. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010;30:1282-92.
- 5) Purushothaman KR, Sanz J, Zias E, Fuster V, Moreno PR. Atherosclerosis neovascularization and imaging. *Current molecular medicine*. 2006;6:549-56.
- 6) Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100:4736-41.
- 7) Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L. Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease. *Circulation*. 1993;87:II3-16.
- 8) Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, Farb A. Pathology of the thin-cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque. *Journal of interventional cardiology*. 2003;16:267-72.
- 9) Sluimer JC, Kolodgie FD, Bijnens AP, Maxfield K, Pacheco E, Kutys B, Duimel H, Frederik PM, van Hinsbergh VW, Virmani R, Daemen MJ. Thin-walled microvessels in human coronary atherosclerotic plaques show incomplete endothelial junctions. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1517-1527.
- 10) Uemura S, Ishigami K, Soeda T, Okayama S, Sung JH, Nakagawa H, Somekawa S, Takeda Y, Kawata H, Horii M, Saito Y. Thin-cap fibroatheroma and microchannel findings in optical coherence tomography correlate with subsequent progression of coronary atheromatous plaques. *Eur Heart J*. 2012 Jan;33(1):78-85.
- 11) Kitabata H, Tanaka A, Kubo T, Takarada S, Kashiwagi M, Tsujioka H, Ikejima H, Kuroi A, Kataiwa H, Ishibashi K, Komukai K, Tanimoto T, Ino Y, Hirata K, Nakamura N, Mizukoshi M, Imanishi T, Akasaka T. Relation of microchannel structure identified by optical coherence tomography to plaque vulnerability in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2010 Jun 15;105(12):1673-8.
- 12) Lu J, Duan W, Qiao A. Finite element analysis of mechanics of neovessels with

intraplaque hemorrhage in carotid atherosclerosis. *Biomed Eng Online*. 2015;14 Suppl 1:S3.

1 3) Horie N1, Morofuji Y1, Morikawa M2, Tateishi Y3, Izumo T1, Hayashi K1, Tsujino A3, Nagata I1. Communication of inwardly projecting neovessels with the lumen contributes to symptomatic intraplaque hemorrhage in carotid artery stenosis. *J Neurosurg*. 2015 Jun 19:1-8.

1 4) Alviar CL1, Tellez A, Wallace-Bradley D, Lopez-Berestein G, Sanguino A, Schulz DG, Builes A, Ballantyne CM, Yang CY, Kaluza GL, Granada JF. Impact of adventitial neovascularisation on atherosclerotic plaque composition and vascular remodelling in a porcine model of coronary atherosclerosis. *EuroIntervention*. 2010 Apr;5(8):981-8.

1 5) *Histol Histopathol*. 2014 Dec;29(12):1565-73. Epub 2014 May 26.
Nestin and WT1 expression in atheromatous plaque neovessels: association with vulnerability.

Fittipaldi S1, Vasuri F2, Degiovanni A3, Pini R1, Mauro R1, Faggioli G1, D'Errico-Grigioni A3, Stella A1, Pasquinelli G4.

1 6) Slevin M1, Krupinski J, Badimon L. Controlling the angiogenic switch in developing atherosclerotic plaques: possible targets for therapeutic intervention. *J Angiogenesis Res*. 2009 Sep 21;1:4. doi: 10.1186/2040-2384-1-4.

1 7) Turu MM, Slevin M, Matou S, West D, Rodríguez C, Luque A, Grau-Olivares M, Badimon L, Martinez-Gonzalez J, Krupinski C-reactive protein exerts angiogenic effects on vascular endothelial cells and modulates associated signalling pathways and gene expression. *J.BMC Cell Biol*. 2008 Sep 2;9:47. doi: 10.1186/1471-2121-9-47.

1 8) Wu H1, Cheng XW2, Hu L3, Hao CN1, Hayashi M1, Takeshita K1, Hamrah MS1, Shi GP4, Kuzuya M3, Murohara T5. Renin inhibition reduces atherosclerotic plaque neovessel formation and regresses advanced atherosclerotic plaques.*Atherosclerosis*. 2014 Dec;237(2):739-47. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.098. Epub 2014 Oct 30.

1 9) Purushothaman KR1, Krishnan P, Purushothaman M, Wiley J, Alviar CL, Ruiz FJ, Zubatov Y, Kini AS, Sharma SK, Fuster V, Moreno PR. Expression of angiotensin-converting enzyme 2 and its end product angiotensin 1-7 is increased in diabetic atheroma: implications for inflammation and neovascularization.*Cardiovasc Pathol*. 2013 Jan-Feb;22(1):42-8.

2 0) Cheng XW, Song H, Sasaki T, Hu L, Inoue A, Bando YK, Shi GP, Kuzuya M, Okumura K, Murohara T. Angiotensin type 1 receptor blocker reduces intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice.*Hypertension*. 2011 May;57(5):981-9.

- 2 1) Olson FJ¹, Strömberg S, Hjelmgren O, Kjell Dahl J, Fagerberg B, Bergström GM. Increased vascularization of shoulder regions of carotid atherosclerotic plaques from patients with diabetes. *J Vasc Surg.* 2011 Nov;*54*(5):1324-1331.e5. doi: 10.1016/j.jvs.2011.04.061. Epub 2011 Jul 20.
- 2 2) Arderiu G, Peña E, Aledo R, Juan-Babot O, Badimon L. Tissue factor regulates microvessel formation and stabilization by induction of chemokine (C-C motif) ligand 2 expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Nov;*31*(11):2607-15.
- 2 3) Purushothaman KR¹, Purushothaman M, Muntner P, Lento PA, O'Connor WN, Sharma SK, Fuster V, Moreno PR. Inflammation, neovascularization and intra-plaque hemorrhage are associated with increased reparative collagen content: implication for plaque progression in diabetic atherosclerosis. *Vasc Med.* 2011 Apr;*16*(2):103-8.
- 2 4) Chowdhury M¹, Ghosh J, Slevin M, Smyth JV, Alexander MY, Serracino-Inglott F. A comparative study of carotid atherosclerotic plaque microvessel density and angiogenic growth factor expression in symptomatic versus asymptomatic patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010 Apr;*39*(4):388-95.
- 2 5) Leroyer AS¹, Rautou PE, Silvestre JS, Castier Y, Lesèche G, Devue C, Duriez M, Brandes RP, Lutgens E, Tedgui A, Boulanger CM. CD40 ligand+ microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization. *J Am Coll Cardiol.* 2008 Oct 14;*52*(16):1302-11.
- 2 6) Kang SM¹, Kwon HM, Hong BK, Kim D, Kim IJ, Choi EY, Jang Y, Kim HS, Kim MS, Kwon HC. Expression of leptin receptor (Ob-R) in human atherosclerotic lesions: potential role in intimal neovascularization. *Yonsei Med J.* 2000 Feb;*41*(1):68-75.
- 2 7) Krupinski J¹, Ethirajan P, Font MA, Turu MM, Gaffney J, Kumar P, Slevin M. Changes in Hyaluronan Metabolism and RHAMM Receptor Expression Accompany Formation of Complicated Carotid Lesions and May be Pro-Angiogenic Mediators of Intimal Neovessel Growth. *Biomark Insights.* 2008 May 12;*2*:361-7.
- 2 8) Williams KJ, Feig JE, Fisher EA. Rapid regression of atherosclerosis: insights from the clinical and experimental literature. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 5:91-102, 2008
- 2 9) Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;*107*:499-511
- 3 0) Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, de Bruyne B, Cristea E, Mintz GS, Mehran R,

McPherson J, Farhat N, Marso SP, Parise H, Templin B, White R, Zhang Z, Serruys PW; PROSPECT Investigators. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011 Jan 20;364(3):226-35.

3 1) Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, Crowe TD, Nissen SE, Tuzcu EM. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes : an intravascular ultrasound study.*Circulation*. 2000 Feb 15;101(6):598-603.

3 2) R.J. Siegel, M. Ariani, M.C. Fishbein, et al. Histopathologic validation of angiography and intravascular ultrasound *Circulation*, 84 (1991), pp. 109-117

3 3) Asakura M, Ueda Y, Yamaguchi O, Adachi T, Hirayama A, Hori M, Kodama K. Extensive development of vulnerable plaques as a pan-coronary process in patients with myocardial infarction: an angiographic study.*J Am Coll Cardiol*. 2001 Apr;37(5):1284-8.